

¿EXISTE UN PAPEL PARA BIOSAF EN LAS DIETAS DE EQUINOS?

Helen R Stebbens¹, D Smith² and D Cuddeford²

1Vistavet (Ireland) Ltd;

2Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh.

Presentado en el V Seminario Internacional de Microbiología Aplicada a la Nutrición Animal, Guadalajara, 2002

BIOSAF Sc47 ha sido incorporado en las dietas de conejos, ovinos, bovinos, aves y cerdos, donde ha permitido una mejor utilización del alimento, altos consumos y mejor comportamiento productivo en general. Su modo de acción no está completamente descubierto, pero parece ser que para tener el máximo efecto, la levadura debe estar viva y metabólicamente activa. Sin embargo los componentes de la levadura, como los materiales de la pared, cumplen importantes roles en la regulación de enfermedades.

Varios modos de acción han sido propuestos para explicar el efecto benéfico de adicionar **BIOSAF Sc47** a la dieta de rumiantes. Estos incluyen:

1. Consumo del oxígeno que ha sido ingerido con la comida y que puede inhibir la actividad de los organismos anaeróbicos del rumen-retículo.
2. Estimulación de organismos consumidores de lactato, lo que ayuda a mantener un óptimo pH para los organismos celulolíticos.
3. Incremento del número de organismos celulolíticos y, por lo tanto, de la producción de ácidos grasos volátiles.
4. Provee factores que promueven el crecimiento (como nucleótidos) de los organismos ruminales.

Los caballos son herbívoros y utilizan los mismos recursos alimenticios que los rumiantes, por lo que es de esperarse que la suplementación con **BIOSAF Sc47** a estos animales pueda ayudarlos de la misma manera a utilizar de mejor manera su alimento. Además, los caballos, al igual que los rumiantes, son susceptibles a la acidosis debido al consumo de dietas ricas en almidones.

El ecosistema del rumen-retículo de los rumiantes es similar al intestino grueso del équido (ciego y colon), a pesar de que el rumiante es un fermentador pregástrico, mientras que el équido es un fermentador postgástrico. Esto significa que si **BIOSAF Sc47** solo es activo en el sitio de fermentación, en el rumiante solamente tiene que atravesar el esófago (~1.5m), mientras que en el equino tiene que pasar a través del esófago, estómago e intestino delgado (cerca de 2 metros en un caballo de 450 kg) antes de alcanzar el ciego. Claramente, en el último de los casos, la levadura debe estar expuesta a la influencia del pH (~2) y a la actividad enzimática, incluyendo enzimas proteolíticas antes de arribar al sitio de fermentación. Por lo tanto, el paso inicial en la evaluación del efecto de **BIOSAF Sc47** en caballos fue observar los efectos de la predigestión (por pepsina ácida) sobre su viabilidad, a través de una prueba de laboratorio in vitro.

El examen de laboratorio incluyó la exposición de muestras (300mg) de BIOSAF Sc47 a un medio de pepsina/HCL por 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 6, 12, 24 y 48 horas (a pH 1.2, 39°C); después de eso, se detuvo la reacción y se neutralizó el medio previo a la incubación con una solución buferada de sucrosa. La producción de gas fue medida a las 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, 56, 77 y 95 horas siguientes a la adición de sucrosa. Se decidió que la actividad metabólica era una medida más realista de la actividad de la levadura que el conteo de UFC, esto basado en la suposición de que cualquier efecto benéfico de la levadura sobre el ecosistema del equino tendrá mayores posibilidades de obtenerse si la levadura es metabólicamente activa. Mas aún, se observó que esta prueba tiene una mayor sensibilidad, es más objetiva y no se inclina hacia las fallas asociadas con el conteo de UFC. Como se esperaba, fue evidente que al prolongarse la exposición a la pepsina ácida, progresivamente se inhibía la actividad de la levadura, lo cual se constató por la medición de la presión del gas acumulado; sin embargo, es necesario hacer notar que la actividad permaneció por más de 48 horas después de la exposición. El manejo de los

datos para expresar la tasa de producción de gas (Tasax) como función del tiempo de exposición a la pepsina ácida (Tex) permitió el análisis de regresión y la derivación de la siguiente ecuación:

$$\text{Tasax} = 0.1182 \cdot \log(1/\text{Tex}) + 0.3789 \quad (r^2=0.88)$$

El porcentaje de supervivencia de **BIOSAF Sc47** fue determinado como $\text{Tasax}/\text{Tasao} \cdot 100$. Para determinar la proporción de organismos viables entrando al ciego del caballo, es necesario tener al menos una idea de la tasa de pasaje prececal de digesta. En Edimburgo hemos medido los tiempos de tránsito, variando entre ~ 2 y ~ 5 h, y los datos tomados de la literatura sugieren tiempos de tránsito a nivel de intestino delgado de ~ 0.75 h. Por tanto, **BIOSAF Sc47**, puede ser expuesto a la pepsina ácida entre 1 y 4 h. La duración exacta de la exposición a la pepsina ácida, será gobernada por la naturaleza del programa de alimentación. La exposición puede ser minimizada por la adición de **BIOSAF Sc47** en un poco de alimento en harina, seguido por disposición de heno a libertad. Basados en el estudio *in vitro*, los datos sugieren que al menos un 33% de la dosis oral debe alcanzar el ciego en forma viable. De esta manera, si la dosis de los caballos (UFC entrando en el ciego) fuera la misma que se utiliza para rumiantes (UFC entrando en rumen), entonces, basándonos en los manuales técnicos, los caballos deberían ser alimentados con 9 a 18 g/h/día.

Una prueba *in vivo* fue llevada a cabo para confirmar la sobrevivencia posterior al tránsito gastrointestinal. Esta involucró a 10 caballos alimentados con 5 g de **BIOSAF Sc47** en forma de bolo por 3 semanas. Estos caballos fueron alimentados con una mezcla de harina de alfalfa. Se obtuvieron muestras fecales frescas de cada caballo los días 7, 14 y 21 después de que inició el consumo del **BIOSAF Sc47**. Dichas muestras fueron procesadas y almacenadas a -70°C hasta su análisis para determinar UFC. Existió una gran variación entre caballos con respecto al número de UFC encontradas. No hubo tendencias de incremento en el número del día 7 al 21 y la recuperación de organismos varió entre 0.18 a 5.17%, con una media de recuperación de 1.26%. Este último valor está de acuerdo con datos publicados para ovejas alimentadas con **BIOSAF Sc47**. En trabajos más recientes realizados en Edimburgo, se utilizaron 0, 2.0 y 4.5 g de **BIOSAF Sc47** para potros como parte de una prueba de digestibilidad; no se encontró ningún efecto de la dosis sobre la tasa de recuperación. La recuperación a partir de las heces varió de 1.62 a 1.96% de la dosis oral y fue independiente de la dosis ofrecida y muy similar a los resultados obtenidos en el primer experimento de 1.26%. Las muestras de heces fueron tomadas diariamente para determinar cuánto tiempo tomaba que **BIOSAF Sc47** viable apareciera en las heces y, una vez discontinuado el tratamiento, cuánto tiempo tardaba en desaparecer. La levadura apareció dentro de las primeras 48 horas de iniciado el tratamiento y desapareció después de 48 horas, soportando la afirmación de que es necesario brindar una dosificación diaria para mantener una cantidad adecuada de microorganismos vivos dentro del tracto gastrointestinal, ya que **BIOSAF Sc47** no coloniza el intestino del caballo.

Una vez establecido que **BIOSAF Sc47** puede sobrevivir al tránsito por el intestino y que cerca de un tercio de la dosis diaria puede sobrevivir al ciego, resta por comprobar el efecto que puede tener esta cepa de levadura sobre el proceso digestivo del caballo. En la ausencia de datos apropiados de dosificación, un estudio inicial *in vitro* fue conducido para determinar los niveles apropiados de uso. Cuatro diferentes forrajes (pasto, heno de pasto, ensilado de pasto y alfalfa) fueron probados en un sistema de cultivo *in vitro* usando inóculo fecal equino (estudios previos en Edimburgo han validado esta técnica). Para los propósitos de dicho estudio se asumió que un caballo de 450 kg tiene una capacidad cecal de ~ 201 , **BIOSAF Sc47** tiene una actividad de 8×10^9 UFC/g y que el 30% de la dosis oral puede sobrevivir hasta el ciego. Cuatro dosis teóricas de 0, 2, 10 y 20 g de **BIOSAF Sc47**/h/día, que se asumió cubrían el rango de dosis oral, fueron tomadas como base y las proporciones apropiadas fueron pesadas y colocadas en el vaso de cultivo junto con 500mg de muestra de cada forraje que fueron puestas en bolsas de incubación individuales. Después de una incubación de 48 horas, las muestras fueron removidas del vaso de cultivo y se midió materia seca y FND para determinar cualquier efecto de la levadura sobre la desaparición de estos componentes. Todos los niveles de **BIOSAF Sc47** resultaron en un incremento ($P < 0.05$ a $P < 0.01$) de la desaparición de materia seca y FDN comparado con el control; los efectos fueron más marcados con el ensilaje > heno > alfalfa > pasto. Este efecto diferencial puede reflejar la naturaleza y arquitectura de los componentes fibrosos de los

diferentes forrajes. Una vez establecido el efecto benéfico de **BIOSAF Sc47** *in vitro*, el siguiente paso fue el estudio *in vivo*.

Cuatro caballos (~600kg) fueron incluidos al experimento donde se usó un diseño de cuadrado latino 4 x 4 para probar 4 niveles (0, 2.5, 5.5 y 18g/h/d) de **BIOSAF Sc47** que fueron representativos del rango utilizado *in vitro*. Se estableció un periodo de adaptación a los tratamientos de 16 días. Una vez concluido este periodo, se procedió a la colección de muestras fecales durante 5 días. La dieta base utilizada fue heno y concentrado en una proporción 60:40. El incremento en la dosis de la levadura estuvo asociado a un aumento de la digestibilidad aparente de materia seca, FDN y PC. Estos efectos fueron significativos para FDN ($P < 0.05$).

Se puede concluir que **BIOSAF Sc47** es un aditivo sano para caballos y que una proporción considerable de la dosis diaria parece sobrevivir a la digestión prececal. No conocemos el significado de esta viabilidad en términos de mejoramiento de la utilización del alimento por el caballo, pero, independientemente de esto, es evidente que su uso en dietas para equinos puede generar importantes beneficios.